

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2001-226294  
(P2001-226294A)

(43) 公開日 平成13年8月21日 (2001.8.21)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
A 6 1 K 47/30		A 6 1 K 47/30	4 C 0 7 6
9/10		9/10	4 C 0 8 6
31/337		31/337	
31/4545		31/4545	
31/519		31/519	
審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 8 頁) 最終頁に続く			
(21) 出願番号	特願2000-32156(P2000-32156)	(71) 出願人	597144679 ナノキャリア株式会社 千葉県柏市柏の葉5丁目4番地6
(22) 出願日	平成12年2月9日 (2000.2.9)	(72) 発明者	横山 昌幸 千葉県松戸市新松戸3-222-205
		(72) 発明者	本澤 栄一 茨城県稲敷郡笠崎町若葉1-14 ドリーム 若葉3-101
		(72) 発明者	小川 泰亮 京都府乙訓郡大山崎町大山崎谷田77-42
		(74) 代理人	100060782 弁理士 小田島 平吉 (外2名)
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 薬物が封入されたポリマーミセルの製造方法および該ポリマーミセル組成物

(57) 【要約】

【課題】 安定かつ高薬物含有率のポリマーミセルの製造およびそのようなポリマーミセルを含む組成物の提供。

【解決手段】 水非混和性有機溶媒に薬物と特定の共重合体とを溶解した溶液を水と混合して、O/W型エマルションを形成し、次いで有機溶媒を溶液から徐々に揮散させる工程を含んでなるポリマーミセルの製造方法、並びにかような製造方法で得ることのできる難水溶性薬物が封入されたポリマーミセル組成物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (A) 水難溶性薬物と親水性セグメントおよび疎水性セグメントを含んでなるブロック共重合体とを水非混和性有機溶媒で溶解して有機溶液を調製し、(B) 得られた有機溶液を水性媒体と混合して水中油(O/W)型エマルジョンを形成し、(C) 得られたエマルジョンから該有機溶媒を蒸発除去することによって該薬物が封入されたポリマーミセル溶液を形成し、そして(D) 必要により、得られたポリマーミセル溶液を超音波処理および限外濾過処理する、工程を含んでなる水難溶性薬物が封入されたポリマーミセルの製造方法。

【請求項2】 親水性セグメントがポリ(エチレンオキシド)、ポリ(リンゴ酸)、ポリ(サッカライド)、ポリ(アクリル酸)、ポリ(ビニルアルコール)およびポリ(ビニルピロリドン)からなる群より選ばれる1種以上を含むセグメントである請求項1記載の製造方法。

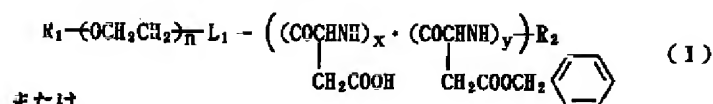
【請求項3】 疎水性セグメントがポリ(β-ベンジル

アスパルテート)、ポリ(γ-ベンジルグルタメート)、ポリ(β-アルキルアスパラテート)、ポリ(ラクチド)、ポリ(ε-カプロラクトン)、ポリ(δ-バレロラクトン)、ポリ(γ-ブチロラクトン)およびポリ(α-アミノ酸)からなる群より選ばれる1種以上を含むセグメントである請求項1または2記載の製造方法。

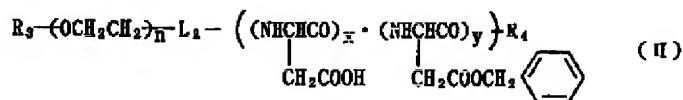
【請求項4】 親水性セグメントがポリ(エチレンオキシド)からなり、そして疎水性セグメントがポリ(β-ベンジルアスパルテート)、ポリ(γ-ベンジルグルタメート)、ポリ(β-ベンジルアスパラテート-コアスパラギン酸)およびポリ(γ-ベンジルグルタメート-コグルタミン酸)からなる群から選ばれる請求項1記載の製造方法。

【請求項5】 ブロック共重合体が、下記式(I)または(II)

【化1】



または



[上記各式中R<sub>1</sub>およびR<sub>3</sub>は、それぞれ水素原子または低級アルキル基を表し、  
R<sub>2</sub>は水素原子、飽和もしくは不飽和のC<sub>1</sub>~C<sub>29</sub>脂肪族カルボニル基またはアリアルカルボニル基を表し、  
R<sub>4</sub>は水酸基、飽和もしくは不飽和のC<sub>1</sub>~C<sub>30</sub>脂肪族オキシ基またはアリアル-低級アルキルオキシ基を表し、  
L<sub>1</sub>は、-NH-、-O-および-OCO-Z-NH- (ここで、ZはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキレン基である) からなる群より選ばれる連結基を表し、  
L<sub>2</sub>は、-OCO-Z-CO-および-NHCO-Z-CO- (ここで、ZはC<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキレン基である) の連結基を表し、  
nは10~2500の整数であり、  
xおよびyは、同一もしくは異なり、それらの合計が10~300となる整数であり、そしてx対yが3:1~0:100の範囲内にあり、かつxおよびyは、それぞれランダムに存在する]で表される請求項1記載の製造

方法。

【請求項6】 式(I)または(II)におけるx対yが7:3~1:3の範囲にある請求項5記載の製造方法。

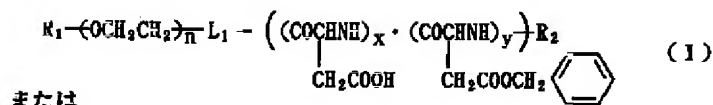
【請求項7】 薬物とブロック共重合体が、重量比で、1:10~3:10で用いられる請求項1~6のいずれかに記載の製造方法。

【請求項8】 水非混和性有機溶媒がクロロホルム、塩化メチレン、トルエン、キシレン、およびn-ヘキサンからなる群より選ばれる少なくとも1種である請求項1~7のいずれかに記載の製造方法。

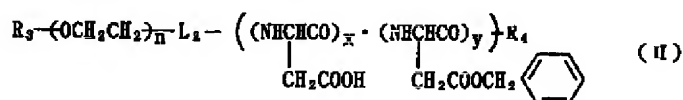
【請求項9】 薬物が封入されたブロック共重合体由来のポリマーミセルを含有する組成物であって、薬物が水難溶性薬物であり、

ブロック共重合体が、下記式(I)または(II)

【化2】



または



[上記各式中R<sub>1</sub>およびR<sub>3</sub>は、それぞれ水素原子または

低級アルキル基を表し、

$R_2$ は水素原子、飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_{29}$ 脂肪族カルボニル基またはアリールカルボニル基を表し、

$R_4$ は水酸基、飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_{30}$ 脂肪族オキシ基またはアリール-低級アルキルオキシ基を表し、

$L_1$ は、 $-NH-$ 、 $-O-$ および $-OCO-Z-NH-$ （ここで、 $Z$ は $C_1 \sim C_4$ アルキレン基である）からなる群より選ばれる連結基を表し、

$L_2$ は、 $-OCO-Z-CO-$ および $-NHCO-Z-CO-$ （ここで、 $Z$ は $C_1 \sim C_4$ アルキレン基である）の連結基を表し、

$n$ は10～2500の整数であり、

$x$ および $y$ は、同一もしくは異なり、それらの合計が10～300となる整数であり、そして $x$ 対 $y$ が7:3～1:3の範囲内にあり、かつ $x$ および $y$ は、それぞれランダムに存在する]で表され、そして該ミセルを水に溶解または分散した場合のミセル溶液が、溶液1ml当たり少なくとも3mgの薬物濃度で安定に保持しうることとを特徴とする組成物。

【請求項10】 薬物がアドリアマイシン、パクリタキセル、ドセタキセル、メソトレキセート、ビンクレステインおよびそれらの類似体からなる群より選ばれる請求項9記載の組成物。

【請求項11】 薬物がパクリタキセルおよびそれらの類似体である請求項9記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、水難溶性薬物が封入されたポリマーミセルの製造方法および医薬製剤としてのポリマーミセル組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】親水性セグメントと疎水性セグメントを有するブロック共重合体を薬物担体として用いること、ならびに該共重合体が形成するポリマーミセルに一定の薬物を封入する方法は知られている（特開平6-107565号公報または米国特許第5,449,513号明細書）。また、特に、水難溶性薬物を封入した均質なポリマーミセルを含有する組成物およびその調製方法も知られている（特開平11-335267号）。

【0003】特開平6-107565号公報には、予め水性媒体中でブロックコポリマーのミセルを形成しておき、これらのミセル溶液に薬物を加え、場合によって加熱や超音波処理下で混合撹拌することによって、薬物をミセル内に封入する方法が記載されている。また、特開平11-335267号公報には、ブロックコポリマーと薬物を水混和性の極性溶媒（例えば、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、アセトニトリル、等）に溶解し、次いで水に対して透析することにより、薬物が封入されたポリマーミセルを調製する方法が記載されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】上記の従来技術によれば、薬物のキャリアーとしてポリマーミセルを使用することに各種の利点が存在することがわかる。しかしながら、薬物、特に水難溶性薬物の種類によっては、ポリマーミセル内に封入される薬物含有率をあまり高めることができない場合や、得られるポリマーミセルが水または緩衝化された水溶液中で必ずしも安定でない場合がある。したがって、本発明の目的は、水難溶性（または疎水性）薬物を簡易かつ安定にポリマーミセル内へ封入する方法を提供し、さらには、水または緩衝化もしくは等張性水溶液中における薬物濃度を有意に高めることのできる安定な薬物が封入されたポリマーミセルを提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、水非混和性有機溶媒に薬物、特に水難溶性薬物と、水性媒体中でポリマーミセルを形成しうる一定のブロック共重合体を溶解し、こうして得られる溶液と水とから水中油（O/W）型エマルションを作製し、次いで有機溶媒を揮散させることを含んでなる単純な工程により、該薬物が効率よりポリマーミセルに封入できることを見出した。しかも、ポリマーミセルの形成に用いるブロック共重合体を適切に選べば、水難溶性薬物を水性媒体中で均質かつ極めて高濃度に保持しうることも見出した。本発明は、以上のような知見に基づくものである。

【0006】したがって、本発明によれば、第一の態様として、（A）水難溶性薬物と親水性セグメントおよび疎水性セグメントを含んでなるブロック共重合体とを水非混和性有機溶媒で溶解して有機溶液を調製し、

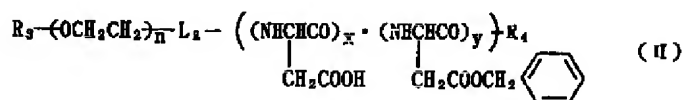
（B）得られた有機溶液を水性媒体と混合して水中油（O/W）型エマルションを形成し、（C）得られたエマルションから該有機溶媒を蒸発除去することによって該薬物が封入されたポリマーミセル溶液を形成し、そして（D）必要により、得られたポリマーミセル溶液を超音波処理および限外濾過処理する、工程を含んでなる水難溶性薬物が封入されたポリマーミセルの製造方法が提供される。

【0007】上記製造方法では、具体的には後述するように多種多様のブロック共重合体を使用することができる。就中、特開平11-335267号に記載されている下記式（I）または（II）のブロック共重合体を都合よく使用できる。なお、該公報に記載されている方法では水難溶性薬物を封入する上で必ずしも効率よく用いることができないことが示唆されている下記式（I）または（II）における $x$ 対 $y$ が7:3～1:3であるアスパルテートが部分加水分解されているブロック共重合体であっても上記の本発明の製造方法によれば、効率よく薬物をポリマーミセル内に封入でき、しかも得られる薬物が封入されたポリマーミセルは水性媒体中で安定に存在しうることが確認された。

【0008】したがって、本発明はもう一つの態様として、薬物が封入されたブロック共重合体由来のポリマーミセルを含有する組成物であって、薬物が水難溶性薬物であり、ブロック共重合体が、下記式 (I) または (I



または



【0010】[上記各式中 $R_1$ および $R_3$ は、それぞれ水素原子または低級アルキル基を表し、 $R_2$ は水素原子、飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_{29}$ 脂肪族カルボニル基またはアリールカルボニル基を表し、 $R_4$ は水酸基、飽和もしくは不飽和の $C_1 \sim C_{30}$ 脂肪族オキシ基またはアリール低級アルキルオキシ基を表し、 $L_1$ は、 $-NH-$ 、 $-O-$ および $-OCO-Z-NH-$ （ここで、 $Z$ は $C_1 \sim C_4$ アルキレン基である）からなる群より選ばれる連結基を表し、 $L_2$ は、 $-OCO-Z-CO-$ および $-NHCO-Z-CO-$ （ここで、 $Z$ は $C_1 \sim C_4$ アルキレン基である）の連結基を表し、 $n$ は10～2500、好ましくは100～1,000の整数であり、 $x$ および $y$ は、同一もしくは異なり、それらの合計が10～300、好ましくは20～100となる整数であり、そして $x$ 対 $y$ が3:1～0:100、好ましくは7:3～1:3の範囲内にあり、かつ $x$ および $y$ は、それぞれランダムに存在する]で表され、そして該ミセルを水に溶解または分散した場合のミセル溶液が少なくとも溶液1ml当たり3mgの薬物濃度で安定に保持しうることを特徴とする組成物が提供される。

【0011】この態様の本発明によれば、従来、高薬物濃度の水性液剤の調製が困難なため、点滴用製剤とされていたような水難溶性薬物を有効成分の濃厚な液剤とすることができ、短時間で必要量の有効成分が投与できる注射剤等とすることも可能である。

【0012】

【発明の実施の態様】本発明にいう「水難溶性薬物」は、それ自体では室温、常圧等の周囲環境下で等量の水に実質的に溶解しないか、あるいは等量の水とクロロホルムとの溶媒系では優先してクロロホルム相に分配されるような薬物を意味する。限定されるものでないが、このような薬物として、アドリマイシン、パクリタキセル、ドセタキセル、メソトレキセート、ビンクリスチン、それらの誘導体などの抗癌薬、アイロタイシン、エリスロマイシン、クラリスロマイシンなどのマクロライド系の抗生物質、アンフォテリシンB、イトラコナゾール、ナイスタチオン、ミコナゾールなどの抗真菌薬、デキサメタゾン、トリアムシノロンなどのステロイド系、インドメタシン、ジクロフェナックなどの非ステロ

I)

【0009】

【化3】

イド系抗炎症薬、エストラジオール、テストステロン、プロゲステロンジエチルスチルベステロール、その誘導体などのホルモン、シロスタゾールなどのプロスタグランジン系、アロスタサイクリン系その他、上記薬剤と同様な溶解性を示す中枢神経系用薬、循環器系用薬、消化器用薬、などの薬物を挙げることができる。

【0013】本発明にいう「親水性セグメントおよび疎水性セグメントを含んでなるブロック共重合体」は、水性媒体中でコア（主として、疎水性セグメントからなる）-シェル（主として、親水性セグメントからなる）型のポリマーミセルとして存在しうるものであって、本発明の目的に沿うものを意味する。本発明の目的に沿うとは、少なくとも後述するような方法によって、薬物が封入された（取込まれた）ポリマーミセルを形成することができることを意味し、薬物が封入されるとは、ポリマーミセルのコア部（または領域）に薬物が主として閉じ込められる状態を意味する。限定されるものでないが、このようなブロック共重合体を構成する「親水性セグメント」としては、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（リンゴ酸）、ポリ（サッカライド）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（ビニルアルコール）およびポリ（ビニルピロリドン）等に由来するセグメントを挙げることができる。他方、「疎水性セグメント」としては、限定されるものでないが、ポリ（ $\beta$ -ベンジルアスパルテート）、ポリ（ $\gamma$ -ベンジルグルタメート）、ポリ（ $\beta$ -アルキルアスパルテート）、ポリ（ラクチド）、ポリ（ $\epsilon$ -カプロラクトン）、ポリ（ $\delta$ -バレロラクトン）、ポリ（ $\gamma$ -ブチロラクトン）およびポリ（ $\alpha$ -アミノ酸）等およびこれらの2種以上に由来するセグメントを挙げることができる。

【0014】このようなセグメントを含んでなるブロック共重合体は公知のものをそのまま、あるいは修飾して使用することができる。具体的には、このようなブロック共重合体としては、上記の特開平6-107565号および特開平11-335267号や、特表7-506961号（WO 93/16687）、WO 96/33233、WO 96/32434、WO 97/06202等に記載されているものをそのまま、あるいは若干修飾して使用することができる。就中、特開平11-3

35267号に記載されているブロック共重合体のうち、上述したような式(I)または(II)で特定されるような共重合体が特に好ましい。特開平11-335267号によれば、むしろ、上記式(I)または(II)における

【0015】

【化4】



【0016】単位のカルボキシル基が飽和もしくは不飽和のC<sub>1-30</sub>脂肪アルコールとのエステル、特に、中級もしくは高級アルキルアルコールとのエステルである場合に、水難溶性薬物をポリマーミセル中に封入するのに適することが示唆されているが、意外にも、本発明によれば、水性媒体中での薬物封入ポリマーミセルの安定化のためには上記式(I)または(II)で表されるブロック共重合体のうち、アスパルテート単位が部分加水分解されている形態にあるものをより好適に使用することができる。

【0017】なお、式(I)および(II)に関する各基の具体例は、次のとおりである。R<sub>1</sub>およびR<sub>3</sub>にいう「低級アルキル基」は、炭素数1〜6の直鎖または分岐鎖であることができ、メチル、エチル、イソプロピル、n-ブチル、イソアミル等であることができる。R<sub>2</sub>にいう「飽和もしくは不飽和のC<sub>1</sub>〜C<sub>29</sub>脂肪族カルボニル基またはアリールカルボニル基はアセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、デカノイル、ドデカノイル(ラウリル)、テトラデカノイル(ミリスチル)、ヘキサデカノイル(パルミチル)、オクタデカノイル、9,12-オクタデカジエノイル(リノリル)、イコサノイル(アラキドニル)、ベンゾイル等であることができる。R<sub>4</sub>にいう「飽和もしくは不飽和のC<sub>1</sub>〜C<sub>30</sub>脂肪族オキシ基またはアリール低級アルキルオキシ基」は、メトキシ、エトキシ、オクチルオキシ、ドシルオキシ、ベンジルオキシ等であることができる。

【0018】L<sub>1</sub>およびL<sub>2</sub>は、一般的に、式(I)および(II)のブロック共重合体の製造方法によって、自由に変わりうる連結基である。式(I)のL<sub>1</sub>が-NH-、-O-または-O-CO-Z-NH-であるポリマーは、例えば、ポリオキシエチレンセグメントをアニオン-リビング重合により形成した後、ω-末端の水酸基をアミノ基または-O-CO-Z-NH<sub>2</sub>基(Zは、C<sub>1-4</sub>アルキレン基である)に転化した後、β-ベンジルアスパルテートのN-カルボン酸無水物を用いる二酸化炭素脱離重合(所謂、NCA法)により、α-アミノ酸鎖を上記アミノ基を介して伸長させた場合に得ることができる。同様にL<sub>1</sub>が-O-のポリマーは、ポリオキシエチレンセグメントをアニオン-リビング重合によって形成し、そのω-末端にポリアミノ酸セグメントをNCA

法により伸長させるか、あるいはNCA法により別途に製造したポリ-β-ベンジルアスパルテートと、ポリオキシエチレンとの縮合による得られるものを挙げることができる。

【0019】式(II)で表されるブロック共重合体は、通常、ポリオキシエチレンとポリ-β-ベンジルアスパルテートを個別に製造した後、それらをポリオキシエチレンのω-末端をカルボキシル基に転化するか、必要により、C<sub>1-6</sub>のアルキレンジカルボン酸を介してカルボキシル基とポリアミノ酸のN-末端アミノ基を連結することにより提供できるものを挙げることができる。

【0020】上記のポリ-β-ベンジルアスパルテートセグメント(またはブロック)を部分加水分解反応に供することにより、上記、遊離のアスパラギン酸単位を所望の程度含むブロック共重合体が都合よく製造できる。以上のようなブロック共重合体の具体的な製造方法は、特開平11-335267号に具体的な記載があるので、必要があれば、それらを参照されたい。

【0021】以下、主として、上記式(I)で表されるブロック共重合体を使用する場合を例に、本発明をさらに説明するが、他の各種ブロック共重合体についても同様または若干の変更を施すことで同様に使用できるであろう。

【0022】また、本発明にいう「水非混和性有機溶媒」とは、例えば、特開平11-335267号におけるポリマーミセルの形成に使用されている水と実質的に自由に混和しうるジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、アセトニトリル等に対立する概念の溶媒を意味し、限定されるものでないが、クロロホルム、塩化メチレン、トルエン、キシレン、およびn-ヘキサン等またはそれらの混合物を具体的なものとして挙げるができる。

【0023】本発明方法の工程(A)では、薬物とブロック共重合体とを水非混和性有機溶媒に溶解した溶液が調製される。このような溶液は、溶媒に薬物およびブロック共重合体を個別に溶解し、その後、併わせるか、または薬物およびブロック共重合体を単一容器中で同時に混合、溶解してもよい。溶質の濃厚な溶液を調製する上で必要があれば、多量の溶媒に溶質を溶解(または均質に分散)した後、一定量の溶媒を徐々に留去してもよい。使用する薬物とブロック共重合体との混合比は、使用する薬物の種類、目的とする薬物の封入率により、好ましい範囲が変動しうるので特定されないが、一般的に、薬物対ブロック共重合体の重量比で、1:20〜2:5、好ましくは1:10〜1:3である。

【0024】工程(B)では、こうして調製された有機溶液を水性媒体と混合して、水中油(O/W)型のエマルションが形成される。水性媒体とは、水(純水もしくはイオン交換水を含む)または食塩もしくは緩衝剤等を含む等張化もしくは緩衝化された水溶液を例示できる。

しかし、水性媒体は、O/W型のエマルジョンを形成するのに悪影響を及ぼさない限り、水混和性の有機溶媒や他の無機塩（例えば、硫酸ナトリウム等）を少量さらに含んでいてもよい。通常、有機溶媒と水性媒体とは、容量比で、1:100、好ましくは1:20となるように混合する。この混合手段としては、各種乳化物を作成するのに常用されている手段、機械的攪拌機、振盪機、超音波照射器等が使用できるかような手段の操作温度は、限定されるものでないが、薬物の温度安定性、溶媒の沸点等を考慮して、約-5℃～約40℃の範囲に設定するのが好ましい。

【0025】こうして、O/W型エマルジョンが形成されたら、開放系で上記混合操作を継続するか、あるいは攪拌しながら減圧下で有機溶媒を蒸発除去（または揮散除去）する。こうして、有機溶媒の揮散が進行するにつれてエマルジョンはポリマーミセル溶液（または分散液）に変化する。

【0026】ポリマーミセル溶液は、そのまま、あるいはポリマーミセルが会合しないしは凝集している可能性のある場合には、超音波処理した後、不溶物や析出物を濾過膜を用いて濾過処理してもよい。使用する濾過膜に制限はないが好ましくは孔径が1μm前後の膜がよい。さらに、水性媒体が食塩等を含む場合には、透析することで生理食塩液中の食塩等を除去してミセル医薬を得る。透析膜は、使用した原料、溶媒、薬物およびポリマー等から効率よく分離できるものであれば材質および孔径には限定されない。通常はセルロース系の膜を使用する。透析後、さらに超音波処理をして、会合したミセルをモノ分散させてもよい。

【0027】本発明に従うポリマーミセルは、上述のように水性媒体中で安定であり、液状調製物中の薬物濃度を高めることができる。このミセル溶液（または液剤）中の薬物濃度を高めるために、濾過による濃縮、あるいは凍結乾燥を行うことができる。

【0028】以上の方法により、薬物と共重合体の総重量当たり、薬物濃度を10～30重量%とすることがで

き、さらに式(1)で表される共重合体を用いた場合には、ポリマーミセル溶液1ml当たり、約3mg、好ましくは約6mg、特に好ましくは約10mg以上の薬物濃度でポリマーミセルを安定に保持できる水性媒体の組成物が提供できる。ポリマーミセルを安定に保持できるとは、室温に該組成物を静置した場合、少なくとも数時間はポリマーミセル間の会合や、ポリマーミセルからの薬物の放出が生じないことを意味する。該会合や薬物の放出は、光学的な検査や目視によって確認できるであろう。

【0029】

【実施例】以下、具体例を挙げて本発明をさらに説明するが、本発明はこれらの例によって限定されるものでない。

例1～4：薬物と共重合体との比率変動の効果

ポリエチレングリコール（分子量12000）-コー50%部分加水分解ポリアスパラギン酸ベンジルエステル（n=50）（以下、12-50PHという）（一般式(1)の共重合体に対応）を用いた。12-50PH50mgとパクリタキセル（Sigma LTDより入手）5, 10, 15, 20mgをそれぞれクロロフォルム5ml中に溶解し、さらにクロロフォルムを留去し、濃縮後クロロフォルム溶液の量を0.5mlに合わせ、重合体と薬物の比率（重量比による）の異なる4種類のクロロフォルム溶液を得た（比率は100:10, 100:20, 100:30, 100:40）。これをそれぞれ5%食塩水溶液5ml中に分散して、激しく約30分間攪拌し、4種のO/Wエマルジョンを得た。その後、室温で緩やかに攪拌しつつクロロフォルムを留去し、パクリタキセルを含有するポリマーミセル溶液を得た。これを孔径0.45μmの膜で濾過し、異物を除去し、このときの薬物含量をHPLCによって測定した。結果を以下の表Iに示す。

【0030】

【表1】

表I

例番号	1	2	3	4
仕込重合体中の薬物濃度 (%)	10	20	30	40
封入率 (%)	69	96	71	59

【0031】表Iから明らかなように、重合体と薬物の比率は100:10から100:30で仕込むときが最も封入率が高いことを示す。

例5～6：共重合体の種類によるポリマーミセルの特性の差違

12-50PHとポリエチレングリコール（分子量12000）-コーポリアスパラギン酸ベンジルエステル（n=25）（以下、12-25という）の2種を用い

た。

【0032】それぞれの共重合体50mgとパクリタキセル10mgを用いて例1と同様の方法で共重合体と薬物の比率を100:20仕込みとしてポリマーミセルを調製した（但し、0.45μmの膜で濾過する前にプローブ型超音波装置にて15分間超音波照射を行った。）。このときの薬物封入率は、12-50PHにおいては94%、12-25においては64%であった。

また、このときの水溶液中の薬物濃度は、それぞれ1.60 mg/ml, 1.23 mg/mlで、これをさらに汙過濃縮した。この濃縮は汉過膜としてミリポア社製モルカットLを用いる加圧汉過によった。12-50 PHでは10.9 mg/mlまで濃縮しても水溶液に異常は認められず、さらに濃縮が可能であった。しかし、12-25では4.1 mg/mlまでにしか濃縮できず、沈殿物が汉過膜に付着した。この結果から明らかなように部分加水分解ポリアスパラギン酸ベンジルエステルを用いたシステムではより濃厚なパクリタキセルミセル溶液を作製することが可能である。

例7：ガラス製遠沈管にポリエチレングリコール-コー50%部分加水分解ポリアスパラギン酸ベンジルエステル(12-50 PH) 50 mgを精秤し、これに濃度2 mg/mlに調製したパクリタキセルのクロロフォルム溶液5 mlを加えた。攪拌し、溶解したのち、窒素気流下でクロロフォルムを留去し、濃縮後クロロフォルム溶液量を0.5 mlに合わせた。これに5%食塩水溶液5 ml加えて、密栓し激しく攪拌してO/Wエマルジョンを形成させた。30分後密栓を外して室温で一昼夜緩やかに攪拌しつつクロロフォルムを留去することによって薬物を封入したポリマーミセル水溶液が得られた。プローブ型超音波装置を用いて1秒毎の間欠発振で15分間ポリマーミセル溶液を照射し、ミセルを十分に分散させた。その後、孔径0.45  $\mu$ mのフィルターを用いて、汉過し、さらに透析して食塩を除去した。その後食塩溶液を添加して等張化した。さらに、ミリポア社製アミコン限外汉過器(UK200膜)を用いて加圧汉過して濃縮した。これによってパクリタキセル濃度が13.5 mg/mlのポリマーミセル水溶液を得た。なお、この溶液中のクロロフォルム含量は5 ppm以下であった。

例8：ガラス製遠沈管にポリエチレングリコール-コーポリアスパラギン酸ベンジルエステル(12-25) 50 mgを精秤し、これに濃度2 mg/mlに調製したパクリタキセルのクロロフォルム溶液5 mlを加えた。以下例7と同様にしてパクリタキセルを含むポリマーミセル水溶液を得た。このときの薬物濃度は3.5 mg/mlであった。

例9：ガラス製遠沈管にポリエチレングリコール-コー50%部分加水分解ポリアスパラギン酸ベンジルエステル(12-50 PH) 50 mgを精秤し、これに濃度3 mg/mlに調製したパクリタキセルのクロロフォルム溶液5 mlを加えた。以下例7と同様にしてパクリタキセルを含むポリマーミセル水溶液を得た。このときの薬物濃度は6.7 mg/mlであった。

例10～13：ガラス製遠沈管に共重合体の35, 50, 65および75%部分加水分解ポリアスパラギン酸ベンジルエステル(n=50)(12-50 PH) 4種をそれぞれ用いた。それぞれの重合体を50 mgづつ精

秤し、これに濃度2 mg/mlに調製したパクリタキセルのクロロフォルム溶液5 mlを加え4種の溶液を作製した。それぞれを攪拌し、溶解したのち、窒素気流下でクロロフォルムを留去し、濃縮後クロロフォルム溶液量を0.5 mlに合わせた。これに5%食塩水溶液5 ml加えて、密栓し激しく攪拌してO/Wエマルジョンを形成させた。30分後密栓を外して室温で一昼夜緩やかに攪拌しつつクロロフォルムを留去することによって薬物を封入した4種のポリマーミセル水溶液を調製した。プローブ型超音波装置を用いて1秒毎の間欠発振で15分間ポリマーミセル溶液を照射し、ミセルを十分に分散させた。その後、孔径0.45  $\mu$ mのフィルターを用いて、汉過した。濃縮する前の段階でのパクリタキセル濃度はそれぞれ、1.8, 1.9, 1.6, 1.7 mg/mlであった。

例14：ガラス製遠沈管にポリエチレングリコール(分子量5000)-コーポリアスパラギン酸ベンジルエステル(n=12)(5-12) 50 mgを精秤し、これに濃度2 mg/mlに調製したパクリタキセルのクロロフォルム溶液5 mlを加え、それぞれを攪拌し、溶解したのち、窒素気流下でクロロフォルムを留去し、濃縮後クロロフォルム溶液量を0.5 mlに合わせた。これに5%食塩水溶液5 ml加えて、密栓し激しく攪拌してO/Wエマルジョンを形成させた。30分後密栓を外して室温で一昼夜緩やかに攪拌しつつクロロフォルムを留去することによって薬物を封入したポリマーミセル水溶液を調製した。プローブ型超音波装置を用いて1秒毎の間欠発振で15分間ポリマーミセル溶液を照射し、ミセルを十分に分散させた。その後、孔径0.45  $\mu$ mのフィルターを用いて、汉過した。その後食塩溶液を添加して等張化した。濃縮する前の段階でのパクリタキセル濃度は1.6 mg/mlであった。

例15：ガラス製遠沈管にポリエチレングリコール-コーポリアスパラギン酸ベンジルエステル(12-25) 50 mgを精秤し、これに濃度2 mg/mlに調製したパクリタキセルのクロロフォルム溶液5 mlを加え、攪拌し、溶解したのち、窒素気流下でクロロフォルムを留去し、濃縮後クロロフォルム溶液量を0.5 mlに合わせた。これに5%食塩水溶液5 ml加えて、密栓し激しく攪拌してO/Wエマルジョンを形成させた。30分後密栓を外して室温で一昼夜緩やかに攪拌しつつクロロフォルムを留去することによって薬物を封入したポリマーミセル水溶液を調製した。プローブ型超音波装置を用いて1秒毎の間欠発振で15分間ポリマーミセル溶液を照射し、ミセルを十分に分散させた。その後、孔径0.45  $\mu$ mのフィルターを用いて、汉過した。濃縮する前の段階でのパクリタキセル濃度は1.1 mg/mlであった。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	(参考)
A 6 1 K 31/704		A 6 1 K 31/704	

Fターム(参考) 4C076 AA17 BB11 CC27 CC50 EE06  
EE09 EE16 EE23 EE24 EE30  
EE41 EE49 FF16 GG45 GG46  
4C086 AA01 AA02 BA02 CB09 CB21  
EA10 MA22 MA66 NA02 NA03  
ZB26